

主 論 文

N-acetyltransferase 2 polymorphism and breast cancer risk with smoking: a case control study in Japanese women

(*N*-アセチルトランスフェラーゼ2の遺伝子多型と喫煙による乳癌の罹患リスクについて：日本人女性での症例対照研究)

[緒言]

喫煙と乳癌罹患リスクの関係は多数の疫学研究で調べられている。International Agency for Research on Cancerによる最新のレビューでは、「乳癌では、他の喫煙関連癌に比べて、観察される影響は小さい」と結論付けられている。最近では、喫煙と乳癌罹患リスクに関して、*N*アセチルトランスフェラーゼ2 (NAT2)との関係も調べられている。NAT2はタバコの発癌物質の代謝に関わるとされており、「遅延代謝型フェノタイプにおいて、迅速代謝型と比較して、喫煙の影響を受けやすい」という仮説をいくつかの研究で調べられているが、一貫した結果が得られていない。Ambrosoneらのメタ解析では、遅延代謝型において、非喫煙者と比較した喫煙者の相対リスクは1.27倍 (95%信頼区間：1.16-1.40) と有意であったが、迅速代謝型においては1.05倍 (95%信頼区間：0.95-1.17) と有意差を認めなかった。一方その後報告された、Coxらの大規模なコホート内症例対照研究においては、NAT2のフェノタイプに関係なく喫煙が乳癌罹患リスクを上昇させるとの結果であった。これらはいずれも欧米人を対象としており、日本人を含めた東アジアでの報告は少ない。

[対象と方法]

対象症例

2010年12月から2011年11月にかけて、岡山大学病院・岡山ろうさい病院・水島協同病院・香川県立中央病院の4施設で、20歳以上の乳癌患者と乳癌検診受診者を対象とした。同意が得られた対象症例に対し、5mlの血液検体を採取、および質問紙法による喫煙歴等の調査を行った。質問用紙は自宅で空欄を埋めたのち、岡山大学に返送していただいた。質問用紙では、年齢・身長・体重・喫煙歴・飲酒歴・運動習慣・月経妊娠歴・出産歴・授乳歴・家族歴・ホルモン療法既往の有無・経口避妊薬使用の有無などの項目に関して調査した。この研究は岡山大学の倫理委員会で承認された。

SNPの選択・解析

遅延代謝型であるNAT2*5, NAT2*6 and NAT2*7と、迅速代謝型であるNAT2*4を分別するため、T341C, G590A, G857Aの3つのSNPに関して解析した。NAT2*14に関しては遅延代謝型ではあるが、アフリカ人以外でのアレル頻度が非常に低いため、今回の研究では除外した。SNPの解析にはアプライド・バイオシステム社のTaqMan_ Sample-to-SNPTM kitと

StepOne™ real-time PCR systemを使用した。PCRは95℃20秒の後、95℃3秒と60℃20秒を40サイクル繰り返して行った。

NAT2フェノタイプの定義

遅延代謝型アレルのホモ接合型を遅延代謝型フェノタイプと定義し、いずれか片方が迅速代謝型アレルを持っている場合、迅速代謝型フェノタイプと定義した。

統計解析

喫煙状態を非喫煙者、現喫煙者、禁煙者の乳癌罹患リスクに関して、ロジスティック回帰分析を用いて、オッズ比を計算した。2つのモデルで解析した。一つは年齢調整モデルで、もう一つは、年齢・BMI・出産数・月経状態・家族歴・飲酒歴で調整した多変量モデルを用いた。また、喫煙年数、喫煙量（一日に消費する箱×喫煙年数）を計算し、名義変数と連続変数の両方で解析した。名義変数での解析では、喫煙年数15年、喫煙量20箱×年を境に重喫煙者と軽喫煙者で層別化して、非喫煙者と比較した。月経状態とNAT2フェノタイプでも層別化して解析し、NAT2と喫煙に関しては、交互作用も解析した。すべての解析はJMP(ver 11.0.0.)を用いて行い、P値が0.05未満を有意と定義した

[結果]

515人の乳癌患者と528人の検診受診者（対照群）が研究参加に関して同意が得られた。そのうち患者1人、対照群1人が同意を撤回し、患者3人において血液検体が得られなかったため、患者511人、対照群527人で解析を行った。患者51人と対照群32人が質問用紙を返送してこなかった。患者のうち何人かは喫煙情報などについて、電子カルテの情報から補完した。

研究対象群の背景因子を表1に、NAT2変異の頻度を表2に示す。NAT2遅延代謝型フェノタイプは患者群の11%、対照群の10%にあたり、NAT2迅速代謝型と比較して、乳癌罹患リスクが高いわけではなかった。（オッズ比：1.15、95%信頼区間：0.77-1.71）

研究対象群全体での喫煙歴と乳癌罹患リスクの関係を表3に示す。多変量解析において、現喫煙者は非喫煙者と比較して乳癌罹患リスクが高かった。（オッズ比：2.27、95%信頼区間：1.38-3.82）

月経状態での層別解析を表4に示す。閉経後の禁煙者を除いて、概ね対象群全体での解析と同様の傾向を示した。閉経後の禁煙者は非喫煙者と比較して乳癌罹患リスクが低かった。（オッズ比：0.41、95%信頼区間：0.16-0.94）

NAT2での層別解析を表5に示す。迅速代謝群においては、現喫煙者は非喫煙者と比較して乳癌罹患リスクが高かった。（オッズ比：2.36、95%信頼区間：1.41-4.03）しかし、遅延代謝群においては、信頼区間が広く、明らかな有意差を認めなかった。（オッズ比：2.60、95%信頼区間：0.31-54.1）喫煙歴とNAT2フェノタイプの間には交互作用を認めなかった。

($p=0.97$)

喫煙年数・喫煙量と乳癌罹患リスクの解析では、重喫煙者だけが非喫煙者と比較して、有意な乳癌罹患リスクの上昇を認めた。喫煙年数15年以上においては非喫煙者と比較して、オッズ比：1.65、95%信頼区間1.03-2.67で、喫煙量20箱×年以上においてはオッズ比：2.48、95%信頼区間1.21-5.37であった。軽喫煙者と非喫煙者の間に有意な差は認めなかった。（表3）喫煙年数・喫煙量の連続変数での解析では、喫煙の程度と乳癌罹患リスクの間に弱い相関を認めた。喫煙年数1年あたりの単位オッズ比：1.02、95%信頼区間：1.01-1.04で、喫煙量1箱×年あたりの単位オッズ比：1.03、95%信頼区間：1.01-1.06であった。NAT2での層別解析では、迅速代謝型では同様の傾向を認めたが、遅延代謝型では広い信頼区間となり、有意差を認めなかった。（表5）

[考察]

今回の研究では、喫煙歴と乳癌罹患リスクに相関関係を認め、喫煙量との間に量反応関係を認めた。また、月経状態やNAT2の状態にかかわらず、一貫した傾向を認めた。

過去の研究と比較して、2点の重要事項がある。1点目は、NAT2フェノタイプの比率が、欧米人と日本人で異なることである。Kuroseらによるアレル頻度の人種間の違いについてのレビューでは、欧米人において、NAT2*5：0.425-0.498, NAT2*6：0.294-0.295, NAT2*7：0.013-0.026のアレル頻度であるのに対し、日本人においては、NAT2*5：0.014, NAT2*6：0.205, NAT2*7：0.088とされており、我々の研究と一貫している。

2点目は、NAT2迅速代謝型において、喫煙と乳癌罹患リスクの相関を認めたことである。欧米での研究では、遅延代謝型においては喫煙と乳癌罹患リスクの相関は一貫してみられていたものの、迅速代謝型では一貫した結果を得られていなかった。過去の研究を考慮に入れると、我々の研究においても、より大きなサンプルサイズがあれば、遅延代謝型で有意相関が認められた可能性はある。しかし、結果的にはサンプルサイズの不足もあって、遅延代謝型では有意相関を認めなかった。これが、今回の研究の第1のLimitationである。

第2のLimitationは病院ベースの症例対照研究であり、健診受診者に関連した選択バイアスの可能性を除外できない点である。日本において、健診受診率は30-40%にとどまっている。一般的に健康指向の強い女性は、健診受診率が高く、喫煙をしない傾向にある。それゆえ、健診受診者が日本人全体を代表する対照群としてふさわしいかという問題がある。

第3のLimitationは、喫煙状態と喫煙量に関して、質問紙法に伴う思い出しバイアスがかかる可能性がある点である。特に、電子カルテで情報の保管が出来た乳癌患者群と比較して、対照群の喫煙量はより不正確である可能性がある。閉経後女性において、禁煙者が、非喫煙者よりも乳癌罹患リスクが低いという結果はこの類のバイアスに由来するものと考えられる。

日本における、喫煙に伴う乳癌罹患リスクに関してのシステマティックレビューでは、「日本人において、喫煙は乳癌罹患リスクを上昇させる可能性がある」と結論付けられて

いる。この報告には、3つのコホートと8つの症例対照研究が含まれ、そのうち1つのコホートと4つの症例対照研究においてのみ、有意相関を認めており、最終的な結論は出ていない。

我々の研究は、症例対照研究という性質上、過去の研究と比較して強い証拠となるわけではない。しかし、過去に欧米で行われてきた、NAT2の層別化により喫煙の影響をより受けやすい群の検出が、日本においてはさほど意義がないかもしれない、という事を示唆した点において、幾分の意味があったと考える。

[結論]

日本人女性において、喫煙は乳癌罹患リスクと関係している可能性はあるが、NAT2の層別化はさほど重要ではないかもしれない。